

## علاقة البروتين الورمي p53 مع واسمة التكاثر الخلوي Ki67 وتعبير القرنين الخلوي 17 في السرطان البشري الفموي شائك الخلايا (دراسة نسيجية مناعية)

الدكتور أحمد المنديلي\*

### الملخص

خلفية البحث وهدفه: هدفت هذه الدراسة المناعية النسيجية إلى تحري العلاقة بين p53 و Ki67 ودرجة الخبث للسرطان شائك الخلايا، فضلاً عن تقييم السلوك الوظيفي للخلية السرطانية بتحري الـ Ck17، ومقارنة ذلك بعلامات الخبث الخلوي.

مواد البحث وطرائقه: اختيرت 64 عينة (خزعة) لدراسة p53 و Ki67 و Ck17، في قسم النسيج والتشريح المرضي بين عامي 2002 - 2009. درجات الخبث الأربع كلها كانت ممثلة بالعينة، كل درجة 16 خزعة. كانت الحالات شاملة للمخاطية المتقرنة وغير المتقرنة. استخدمت في التلوين المناعي الكواشف المناعية CK17، و p53، و Ki67. استخدم معامل الارتباط لبيرسون للدراسة الإحصائية ودراسة العلاقة بين علامات اللانموذجية الخلوية ودرجة الخبث. النتائج: كان وضوح النويات 87,5% وتعدد الأشكال 65,6% و الانقسامات الشاذة 59,4% والتقرن الفردي 36%. أظهر معامل الارتباط بحسب بيرسون علاقة قوية بين علامات اللانموذجية الخلوية ودرجة الخبث. p53 و Ki67 و Ck17 كانت إيجابية في 76.6% و 51,6% و 65% على التوالي. كانت العلاقة بين إيجابية الكواشف المناعية ودرجة الخبث قوية ومهمة.

الاستنتاج: توجد علاقة قوية طردية بين درجة الخبث وعلامات اللانموذجية الخلوية (التغيرات الشكلية) و الإيجابية المناعية النسيجية خاصة للكاشفين p53 و Ki67. فضلاً عن العلاقة القوية العكسية بين إيجابية الكاشفين المناعيين p53 و Ki67 وظهور الرشاحة اللمفية المصورية. يجب أن نتأكد من التشخيص الصحيح للسرطان البشري شائك الخلايا بالفحص النسيجي والمناعي النسيجي، ويجب أن ننتبه إلى ضرورة استخدام أكثر من ملون مناعي واحد.

الكلمات المفتاحية: السرطان الفموي البشري شائك الخلايا، CK، P53، Ki67

\* أستاذ مساعد - قسم التشريح المرضي - كلية طب الأسنان - جامعة دمشق.

## **Correlation between p53, proliferative marker Ki67 and expression of cytokeratin 17 in Oral Squamous Cell Carcinoma ( OSCC ) (Immunohistological Study)**

**Ahmad Almanadili<sup>\*</sup>**

---

### **Abstract**

**Background & Objective:** This immunohistochemical study is to investigate the correlation between p53 & Ki67 and the grade of malignancy of squamous cell carcinoma, to estimate functional behavior of the cancerous cell by Ck17, and to compare the results with the histological grading.

**Methods & Materials:** 64 samples (biopsies) were chosen to check for p53, Ki67 & Ck17 at department of oral histology and pathology between 2002- 2009. All four degree of malignancy were chosen and checked, each degree 16 biopsies. Samples were chosen of keratinized and non-keratinized mucosa. Immune reactives Ck17, p53 and Ki67 were used for staining. Pearson's correlations coefficient was used to study the correlation between p53, Ki67, Ck17 and the degree of malignancy.

**Results:** appearance of nucleous 87,5%, polymorphism 65,6%, abnormal mitosis 59,4% and individual keratinization 36% were shown. Pearson's correlation coefficient means a strong positive correlation between the sings of the cellular atypism and the dgree of malignancy. P53, Ki67 and Ck17 were positive in 76,6%, 51,6% and 65,6% successively. The correlation between the positivity of immune reactives and the degree of malignancy was strong and significant.

**Conclusion:** There is a strong positive correlation between the degree of malignancy and the signs of cellular atypism (morphological changes) and the immunhistochemical positivity specially p53 and Ki67, and there is a strong negative correlation between the positivity of p53, Ki67 and the plasmolymphatic infiltrate. We must be sure of the correct diagnosis of squamous cell carcinoma by histological and immunohistochemical examination, and attention should be given to use more than one immune reactive.

**Key words:** oral squamous cell carcinoma, ck17, p53, ki67

---

---

<sup>\*</sup> Ass. Prof. Department, Dental school, Damascus University.

## مقدمة:

الرصفية المطبقة غير المتقرنة (باطن الخد مثلاً)، أمّا البشرة الرصفية المطبقة نظيرة التقرن فتضم القرنين الخلوي 1 و 10 أو 4 و 13 (الثلاثة مثلاً).<sup>(14)</sup> تكون الخلايا البشرية السرطانية إيجابية لـ Ck17 ممّا يفيد في التشخيص، بل له دلالة في حالة استعمار العقد اللمفية.<sup>(15،16)</sup> وبالمقارنة بين تعبيرية Ck17 و Ck19 فإن السرطان البشري شائك الخلايا يبدي تعبيرية لـ Ck17 أكبر من تعبيرية الـ Ck19 في المراحل المبكرة ولاسيما المرحلتين Stage I & II (Tumour 1 and 2) T1&2،<sup>(17)</sup> في حين يكون للـ Ck19 دلالة مهمة في المراحل المتأخرة من السرطان ولاسيما Stage III & IV ( Tumors 3 and 4) T3 و T4.<sup>(15)</sup>

تصنف المورثات المعنية إلى طلائع المورثات الورمية محرضات النمو و المورثات كابحات النمو و المورثات المنظمة للموت الخلوي المبرمج و المورثات المنظمة لترميم الـ DNA . ذكرت إحدى الدراسات أن الأورام الخبيثة تنشأ نتيجة حدوث تغييرات وراثية متعددة ومتراكمة تؤثر في سلوك الخلايا البشرية، في مناطق الصبغيات المتغايرة التي تضم مورثات كابحة لنمو الأورام ، مما يسبب سلسلة تغييرات وظيفية ومورفولوجية تنتهي بحدوث السرطان.<sup>(18)</sup>

يتطور السرطان على مراحل متعددة ، تتصف كل مرحلة بتحريضات مع تشوهات مورثية تتراكم مع كل انقسام جديد. تتضمن هذه التغييرات المورثية تضخيم المورثة وفراط التعبير عنها والطفرات وعدم تفعيل المورثة الكابحة P53.<sup>(19)</sup> هذا وقد أبدى مرضى سرطان الرأس والعنق قابلية للأذية الصبغية بواسطة المطفرات.<sup>(20)</sup>

حظيت المورثات بقسط كبير من الدراسات، إذ اكتشف الباحثون حدوث طفرات في مورثات عدة في سياق تطور السرطانات 3p, 9p, 17p، الأمر الذي أدى إلى عدّ

يحتل السرطان الفموي الموقع السادس في العالم بين السرطانات<sup>(1،2)</sup>، والمركز الثالث في العالم النامي<sup>(1)</sup>. كما أنه يشكل نسبة تفوق 90% من السرطانات الفموية،<sup>(3،4)</sup> هذا من جهة ومن جهة أخرى فإن معدل الوفيات الناجمة عن السرطانات الفموية تبلغ نسبة 50% تقريباً.<sup>(5)</sup> هذا ما يبرر اهتمام الباحثين به، وقد تناولت البحوث بادئ ذي بدء دراسة مسبباته، بناء على تحليل معطيات إحصائية، كما حاولت تحديد أعراضه وعلاماته السريرية ووصفت بنيته النسيجية، ذلك كلّه بغية التوصل إلى طرائق علاج ناجعة، إلا أن ذلك كله لم يحقق تقدماً كبيراً على مستوى تحسين الإنذار ونسبة البقاء بل والشفاء الكامل، وظل السرطان أحجية عصية على الفهم، إلى حين بدأ العلماء الاهتمام بدراسة السرطان على المستوى المورثي والجزئي مستفيدين من التقدم الكبير الذي حققه علما الوراثة والكيمياء الجزيئية. إن ثمة تغييرات على المستوى المورثي (سواءً من الناحية البنوية أو الوظيفية) تسبب تغييرات في البروتينات المنظمة لدورة الخلية،<sup>(6)</sup> كما أنها تقف وراء الشذوذات الخلوية والكيميائية والوظيفية في الخلية، المسؤولة عن تطور السرطان البشري شائك الخلايا،<sup>(7،8،9)</sup> وتعدّ من العلامات المبكرة للسرطان.<sup>(10)</sup>

اهتمت البحوث بدراسة تعبيرية مجموعة القرنين الخلوي cytokeratins (CK) وتحريها التي هي عبارة عن بروتينات متفاوتة الوزن الجزيئي، وتوزع بين مركبات حمضة وأسدة، توجد ضمن الخلية البشرية على شكل لبيفات دقيقة، تمنح الخلية صفاتها وتميّز مراحل تمايزها. هذا وقد لوحظ أن الخلية البشرية السرطانية تحتفظ بالقرنن الخلوي المميز كصفة تشير إلى منشئها النسيجي histogenesis.<sup>(11،12،13)</sup> تحتوي البشرة الرصفية المطبقة المتقرنة (قبة الحنك مثلاً) على القرنين الخلوي 1 و 10، في حين يوجد القرنان الخلوي 4 و 13 في البشرة

في المحضرات النسيجية إلا أن نصف عمره الوظيفي يمتد إلى عدة ساعات في حالة الطفرة.<sup>(31، 32)</sup>

تطُرقت البحوث أيضاً إلى دراسة الواسمة النووية Ki67 وتقييمها، وهي تعبر عن الفعالية الانقسامية وتتغل لدى اكتمال دورة الخلية في الطور G1 المبكر، إذ وجدت أنها تكون مفرطة التعبير في الخلايا البشرية في حالة الآفات قبيل السرطانية والسرطانية،<sup>(27)</sup> ويمكن أن تستخدم مشعراً لمعدل التكاثر في المكونات البشرية مع الـ geminin و Mcm2 (minichromosome maintenance protein)،<sup>(33)</sup> هذا وقد أظهرت الدراسة أن Ki67 يكون أعلى في السرطان مما هو في الآفات قبيل الخبيثة وفرط التقرن الفموي والمخاطية الفموية الطبيعية.<sup>(27)</sup> في حين توصلت دراسة أخرى إلى أن ليس له علاقة بالبقيا ويفيد الإنذار.<sup>(34)</sup> كما أن ليس له علاقة بالتدخين وتناول المشروبات الكحولية، وإنما هو واسمة حيوية تشير إلى الإصابات قبيل السرطانية.<sup>(30)</sup> تزداد فعالية الـ Ki67 بشكل عام وفقاً لتكاثر الخلايا وتطور الورم<sup>(29)</sup> وتتشارك فرط تعبيرته مع استعمار العقد اللمفية.<sup>(35)</sup>

هو نوع من البروتينات التي تعكس التكاثر الخلوي ويمكن أن تكون واسمة موثوقاً بها وسريعة، تكاثر الخلايا الخبيثة مرتبط مع تطور الاستعمار وإنذار أنواع مختلفة من السرطانات<sup>(36)</sup> في البشرة القريبة من الآفة السرطانية يكون تعبيره أكثر مما هو في البشرة البعيدة.<sup>(21)</sup> هدفت الدراسة إلى تحري الـ p53 الطافرة في السرطان البشري شائك الخلايا الفموي ودراسة العلاقة بينها وبين واسمة التكاثر الخلوي Ki67 فضلاً عن تقييم السلوك الوظيفي للخلية السرطانية بتحري الـ Ck17، ومقارنة ذلك بعلامات الخبث الخلوي.

السرطان مرضاً مورثياً، ويحدث في حقل نسيجي متغير مورثياً.<sup>(21)</sup>

أشير إلى دور المورثة p53، وهي من المورثات الكابحة لنمو الورم وتتوضع على الصبغي 13.1 17P، في تطور دورة الخلية وتميزها وترميم عيوب الـ DNA وتتدخل في حادثة الاستموات apoptosis، وعُدت المورثة الحارسة للجينوم<sup>(22)</sup>. كما أشير إلى دور البروتين p53 في استقلاب الغليكوز في خلايا السرطان.<sup>(23)</sup>

تصاب المورثة p53 في سياق أكثر من 50% من السرطانات البشرية المختلفة بطفرات (سرطانات الرأس والبلعوم والمثانة والمعتكلة وغيرها..). متضمنة 25-69% من السرطانات الفموية،<sup>(22، 24)</sup> تتباين نسبة التعبير عن هذه المورثة بين 45 - 70% من الخلايا لدى المصاب بالسرطان.<sup>(25)</sup> وفي دراسة أخرى تراوح إيجابيتها بين 19 - 94% من الحالات.<sup>(26)</sup> كما يكون تعبير البروتين p53 أعلى في السرطان مما هو في الآفات قبيل السرطانية وفرط التقرن والمخاطية الطبيعية.<sup>(27)</sup> كما أن طفراتها تصادف في 15 - 19% من الآفات قبيل السرطانية الفموية.<sup>(28)</sup>

يزداد تعبير الـ p53 مع فعالية تكاثر الخلايا وتطور السرطان.<sup>(29)</sup> كما لوحظ أن إيجابية المورثة p53 الطافرة تكون مرتفعة في السرطانات لدى المدخنين ومنتاولي الكحول أكثر مما لدى سواهم،<sup>(30)</sup> فهي أكثر بـ 3.5 مرات ظهوراً لدى المدخنين ومنتاولي الكحول.<sup>(24)</sup> كما لوحظ أن 60% من الحالات إيجابية لدى المدخنين غير المصابين بالسرطان، في حين كانت نسبة الإيجابية 75% لدى المصابين بالسرطان.<sup>(31)</sup> ذكرت البحوث أن النمط السليم من المورثة p53 ذو عمر قصير، إذ يراوح نصف عمره الوظيفي بين 4 - 20 دقيقة، بحيث لا يمكن كشفه

## مواد البحث وطرقه:

تقطيعها بالمبشرة الآلية ومن ثم فرش البشارات على الشرائح الزجاجية ومن ثم تمريرها بحمامات متتابعة من الكزيلول لنزع البارافين، والكحول المطلق لنزع الكزيلول، وغسلها بالماء تمهيداً لتلوينها بملون الإيوزين ومن ثم الهيماتوكسيلين، ومن ثم سترها بالساترات بعد إمرارها بحمامات متتابعة من الكحول فالكزيلول تمهيداً لإلصاق الساترات ببلسم كندا.

اعتمدنا في تصنيف الحالات المدروسة وفق درجة الخبثة النسيجية على تقسيم الحالات إلى أربع درجات، وذلك اعتماداً على معايير منظمة الصحة العالمية<sup>(36,37)</sup> التي تتعلق بالتغيرات البنيوية للنسيج الظهاري، وتتضمن معلومات عن التطبيق وقطبية الخلايا القاعدية والامتدادات الأصبعية البشروية ضمن النسيج الضام والانقسامات الخلوية والتقرن المفرد وكرات التقرن، وعلى التبدلات على سوية الخلية، ويتضمن تغيرات حجم النوى وشكلها وتغيرات حجم الخلايا وشكلها وتبدلات النسبة بين النواة والهولى وظهور النويات مع ملاحظات عن عددها وحجومها فضلاً عن المعلومات عن فرط الانصبغ النووي.<sup>(36)</sup>

## الدراسة المناعية النسيجية:

أجريت الدراسة المناعية النسيجية بتطبيق طرائق التلوين المناعية باستخدام الكواشف المناعية المستوردة من شركة DAKO: Ck17 و p53 و Ki67، فضلاً عن الكيت المناعي LASB الخاص لشركة DAKO.

هذا وقد اعتمدت طريقة الشركة المصنعة، للأضداد المناعية، في تلوين المحضرات بالملونات الكيميائية النسيجية المناعية؛ إذ نزع البارافين عن المقاطع النسيجية المجراة بسماكة 5 ميكرونات، ووضعت في محلول الدارئ المسخن ضمن الميكرووفيف مدة ربع ساعة، ثم بردت المحضرات ووغسلت بالماء المقطر. غمرت المحضرات بالماء الأكسجيني 3% مدة خمس دقائق، ثم

عينة المرضى: اختيرت 64 عينة من السرطان شائك الخلايا المستأصل من الحفرة الفموية ومجاوراتها في كلية طب الأسنان في قسم النسيج والتشريح المرضي، للدراسة المناعية النسيجية، بين عامي 2002-2009. اختيرت بحيث شملت العينات الجنسين (20 ذكراً و 20 أنثى)، ومثلت الحالات المتطورة على حساب المخاطية المتقرنة (الشفة واللثة) وغير المتقرنة (مخاطية السنخ والخد وقاع الفم والسطح السفلي للسان)، كما شملت درجات الخبث كلها بحسبما هو موضح في الجدول (1). أخذت العينات جميعها من مرضى لم يخضعوا لأية معالجة شعاعية أو كيميائية.

## الجدول رقم (1) يوضح توزيع عينة الدراسة بحسب درجة الخبث

## الخلوي وبحسب مناطق الفم المختلفة

الموقع / درجة الخبث	الشفة	اللثة	مخاطية السنخ والخد	قاع الفم والسطح السفلي للسان
I	4	4	4	4
II	4	4	4	4
III	4	4	4	4
IV	4	4	4	4
المجموع	16	16	16	16

فضلاً عن 4 عينات شاهدة أخذت من قبة الحنك الصلبة دون أية تظاهرات مرضية سريرية، وذلك لتأكيد سلبية التفاعل المناعي بالنسبة إلى القرنين الخلوي 17 في المخاطية السليمة، و 4 عينات من سرطان الثدي لضبط التلوين المناعي.

## الدراسة النسيجية:

تناولت الدراسة دراسة المحضرات الملونة بالهيماتوكسيلين والإيوزين، أجريت الدراسة بقسم النسيج والتشريح المرضي بعد تحضير المحضرات النسيجية بطريقة الهيماتوكسيلين - إيوزين حيث جففت الخزعات بعد تثبيتها بالفورمول 4-6%، بحمامات الكحول المطلق وتشفيفها بحمامات الكزيلول وإدماجها بالبارافين ومن ثم

علاقة البروتين الورمي p53 مع واسمة التكاثر الخلوي Ki67 وتعبير القرنين الخلوي 17 في السرطان البشري الفموي شائك الخلايا (دراسة نسيجية مناعية)

**1- الدراسة النسيجية بالهيماتوكسيلين والإيوزين :**  
 اتصف السرطان البشري شائك الخلايا نسيجياً بتكاثر الخلايا البشرية الخبيثة واجتياحها، التي تختلف شكلياً عن خلايا البشرة الطبيعية ، في عمق الأنسجة الضامة المجاورة على شكل حبال أو جزر بشروية منفصلة ، مترافقة بانقطاع استمرارية الغشاء القاعدي .  
 درست علامات الخبث الخلوي ونسب مصادفتها موزعة على درجات الخبث الخلوي، يوضح الجدول رقم (2) نتائج هذه الدراسة. كما توضح الأشكال النسيجية 1 و 2 و 3 هذه العلامات.

الجدول رقم (2): علامات الخبث الخلوي ونسب مصادفتها بحسب

**درجات الخبث الخلوي**

درجة الخبث النسيجية	الانقسامات الشاذة	وضوح النويات	تعدد الأشكال	التقرن الفردي	كرات التقرن	تجانس اصطباج النوى
I	4-25%	13-	6-37,5%	3-	14-	13-
II	43,75%	14-	7-	4-25%	10-	10-
III	12-75%	14-	14-	6-37,5%	6-	7-
IV	15-	15-	15-	10-	4-25%	3-
المجموع	38-59,4%	56-	42-	23-36%	34-	33-50%

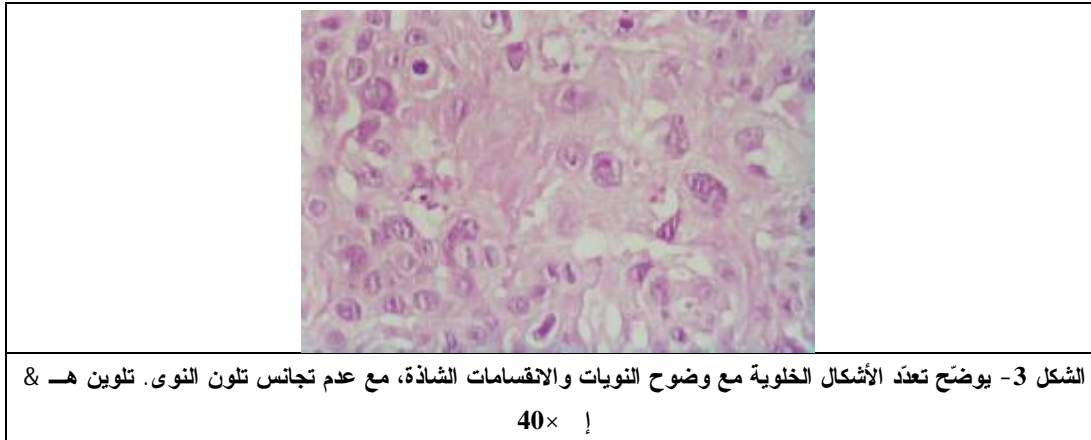
غسلت بسائل تريس وغمرت به مدة خمس دقائق، ثم غمرت بالمستضد الأولي (مستضدات المورثة P53 و Ki67 و Ck17) مدة 15 دقيقة في حاضنة بدرجة حرارة 25<sup>0</sup>م، ثم غسلت المحضرات وغمرت بسائل تريس. غمرت المحضرات بالرباط مدة عشر دقائق ثم غسلت وغمرت بسائل تريس. بعد ذلك غمرت المحضرات بالستربتافيدين " Straptavidin " مدة عشر دقائق وبعد الغسيل بسائل تريس غمرت في المزيج Substrate+Chromogen مدة 10 دقائق. غسلت المحضرات بالماء المقطر ثم جففت لتلون بعدها بهيماتوكسيلين ماير مدة نصف دقيقة ثم غسلت المحضرات بالماء المقطر ومن ثم الماء الجاري. سترت المقاطع النسيجية باستخدام مزيج " الجيلاتين والجليسرين " ووضعت الساترة الزجاجية فوقها، ومن ثم فحصت بالمجهر الضوئي.

**الدراسة التحليلية الإحصائية:** وُضِعَتِ البيانات السريرية في جداول من أجل الإحصاءات الوصفية باستخدام برنامج SPSS الإصدار 13.0. واستخدم اختبار بيرسون معامل الارتباط لدراسة العلاقة بين الكواشف المناعية من جهة وبينها وبين علامات الخبث الخلوي.

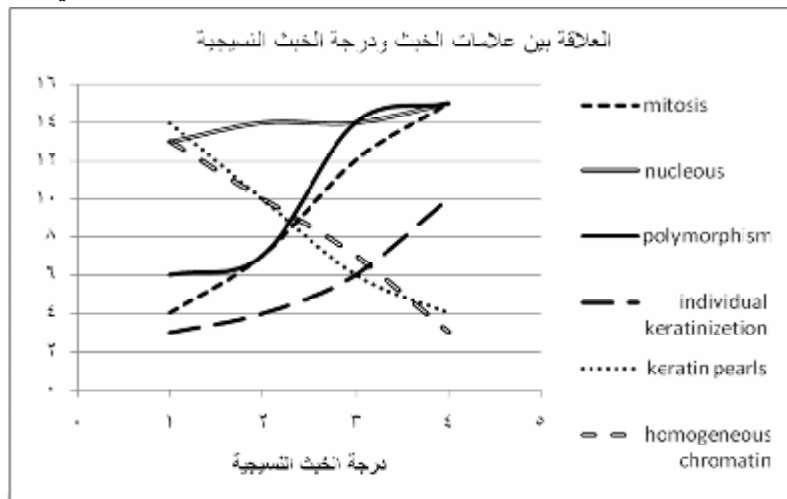
**النتائج:**

يوضح المخطط البياني رقم (1) العلاقة بين علامات الخبث الخلوي ودرجة الخبث الخلوي، نلاحظ من هذا المخطط أن الانقسامات الخلوية الشاذة تتزايد بشكل طردي مع التقرن الفردي وتعدّد الأشكال، إذ بلغت قيمة معامل





الارتباط بحسب بيرسون 0,994، و0,959، و0,942 على التوالي. في حين تتناقص مصادفة كرات التقرن وتجانس اصطبغ النوى، إذ بلغت قيمة معامل الارتباط بحسب بيرسون 0,989، و0,997 على التوالي.



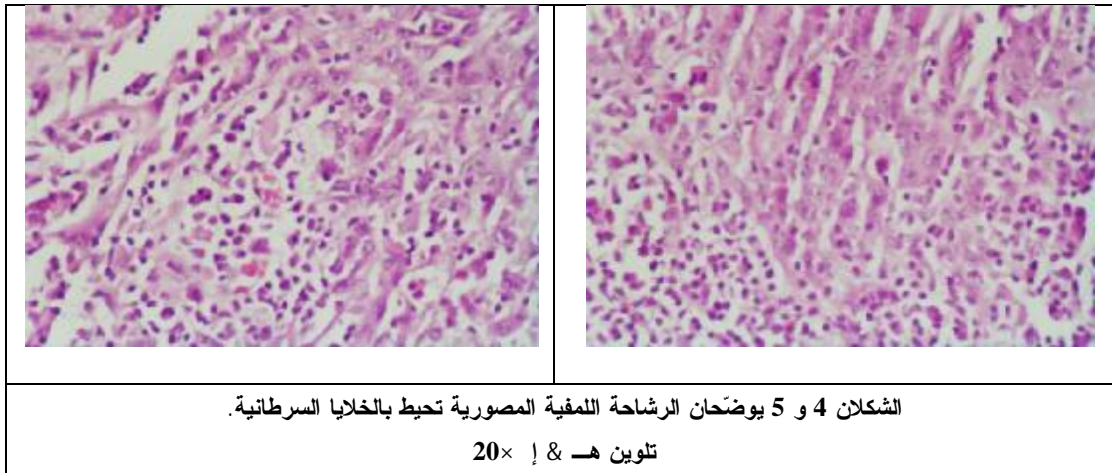
المخطط البياني رقم (1): علاقة علامات الخبث الخلوي مع درجات الخبث الخلوي

ضمت حالات السرطان لحمة ضامة احتوت على أوعية دموية صغيرة مستحدثة وعلى رشاحة خلوية لمفية مصورية، تناسبت كثافتها مع درجة الخبث الخلوي، وفق علاقة عكسية قوية، إذ بلغت قيمة معامل الارتباط بحسب بيرسون -0,99، الجدول رقم (3). يوضّح الشكلان 4 و 5 هذه الرشاحة اللمفية المصورية.

الجدول رقم (3): توزع الرشاحة اللمفية ونسب مصادفتها بحسب درجات الخبث الخلوي

المجموع	IV	III	II	I	درجة الخبث النسيجية
33	3	6	9	14	الرشاحة اللمفية
%50	%18,75	%37,5	%56,25	%87,5	

علاقة البروتين الورمي p53 مع واسمة التكاثر الخلوي Ki67 وتعبير القرنين الخلوي 17 في السرطان البشري الفموي شائك الخلايا (دراسة نسيجية مناعية)



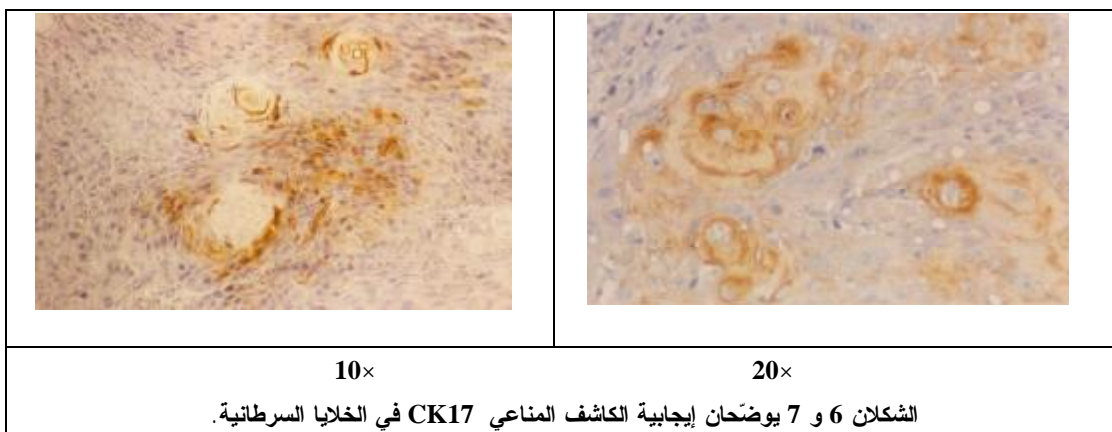
2- الدراسة النسيجية المناعية :

الكاشف Ck17:

يلخص الجدول رقم (4) نتائج إيجابية هذه الكاشف في عينات الدراسة موزعة على درجات الخبث الخلوي وعلى مناطق توَضَع الإصابة. يوضَح الشكلان 6 و 7 إيجابية الـ CK17

الجدول رقم (4) : إيجابية الكاشف Ck17 بحسب درجات الخبث الخلوي موزعة على مناطق الإصابة

الشفة	اللثة	السنخ واطن الخد	قاع الفم والسطح السفلي للسان	الإيجابية	درجة الخبث النسيجية
4	4	3	3	%87,5 - 14	I
3	4	3	2	%75 - 12	II
3	3	2	1	%56,25 - 9	III
2	2	2	1	%43,75 - 7	IV
%75 - 12	%81,25 - 13	%62,5 - 10	43,75 - 7	%65,6 - 42	المجموع



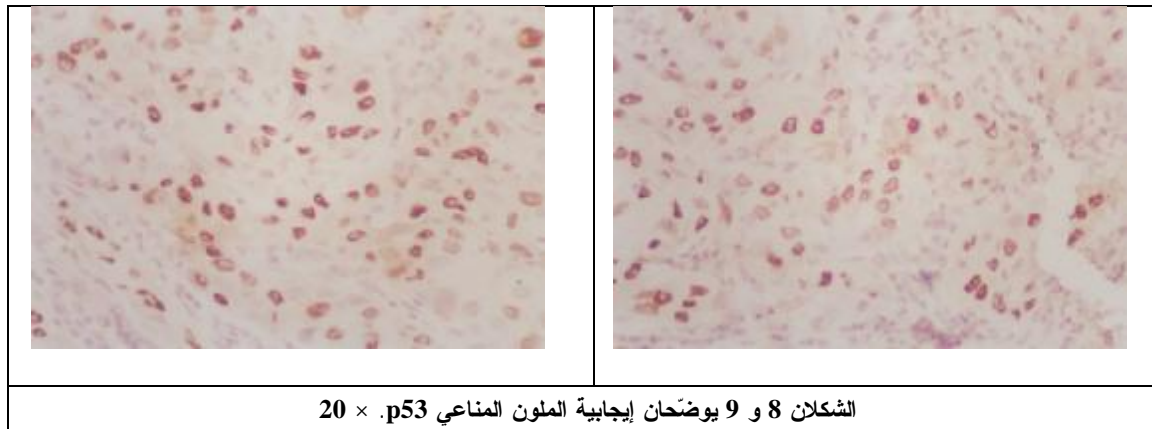
الكاشف P53

يوضَح الجدول رقم (5) نتائج دراسة المحضرات النسيجية الملونة بالكاشف P53 موزعة بحسب درجات الخبث الخلوي وعلى مناطق توَضَع الإصابة. يوضَح الشكلان 8 و 9 إيجابية p53



الجدول رقم (5) : إيجابية الكاشف p53 بحسب درجات الخبث الخلوي موزعة على مناطق الإصابة

الشفة	اللثة	السنخ وباطن الخد	قاع الفم والسطح السفلي للسان	الإيجابية	درجة الخبث النسيجية
2	2	3	3	%62,5 - 10	I
2	2	3	4	%68,75 - 11	II
3	2	4	4	%81,25 - 13	III
4	3	4	4	%93,75 - 15	IV
%68,75 - 11	%56,25 - 9	%87,5 - 14	%93,75 - 15	%76,6 - 49	المجموع

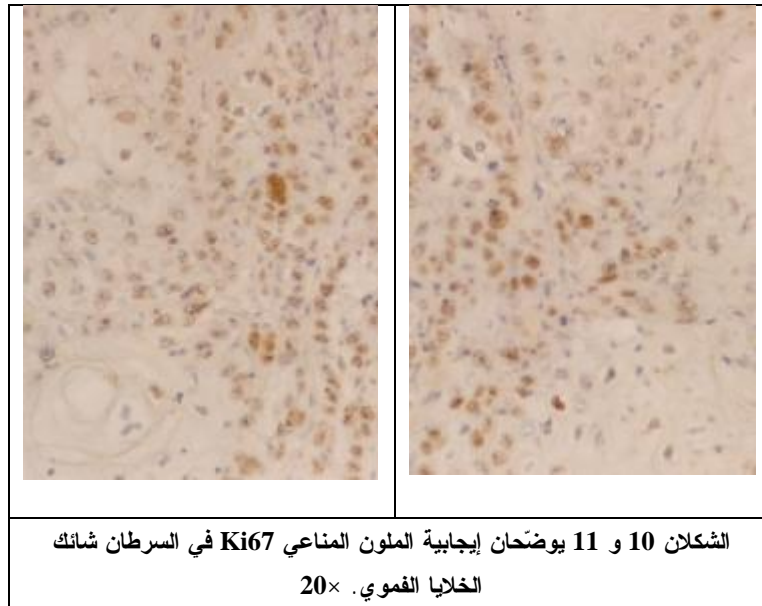
**الكاشف Ki67**

يوضح الجدول رقم (6) نتائج دراسة المحضرات النسيجية الملونة بالكاشف Ki67 موزعة بحسب درجات الخبث الخلوي، وعلى مناطق توضع الإصابة. يوضح الشكلان 10 و 11 إيجابية Ki67

الجدول رقم (6) : إيجابية الكاشف Ki67 بحسب درجات الخبث الخلوي موزعة على مناطق الإصابة

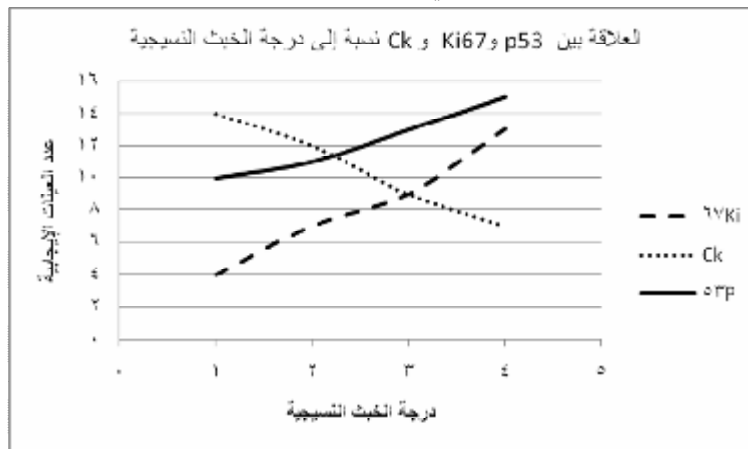
الشفة	اللثة	السنخ وباطن الخد	قاع الفم والسطح السفلي للسان	الإيجابية	درجة الخبث النسيجية
-	2	1	1	%25 - 4	I
1	2	2	2	%43,75 - 7	II
2	2	2	3	%56,25 - 9	III
3	4	3	3	%81,25 - 13	IV
%37,5 - 6	%62,5 - 10	%50 - 8	%56,25 - 9	%51,6 - 33	المجموع

علاقة البروتين الورمي p53 مع واسمة التكاثر الخلوي Ki67 وتعبير القرنين الخلوي 17 في السرطان البشري الفموي شائك الخلايا (دراسة نسيجية مناعية)



دراسة العلاقة بين درجات الخبث الخلوي والكواشف المناعية:

يبين المخطط البياني (2) علاقة الكواشف بدرجة الخبث الخلوي، وعلاقتها فيما بينها. يلاحظ أن علاقة الـ Ck هي علاقة عكسية، في حين أن علاقة الـ P53 و Ki67 هي علاقة طردية بدرجة الخبث الخلوي.

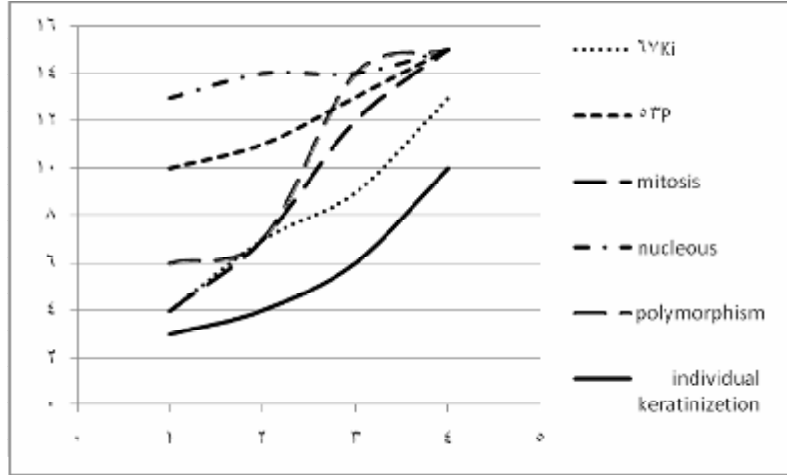


المخطط البياني رقم (2) علاقة الكواشف المناعية مع درجة الخبث الخلوي

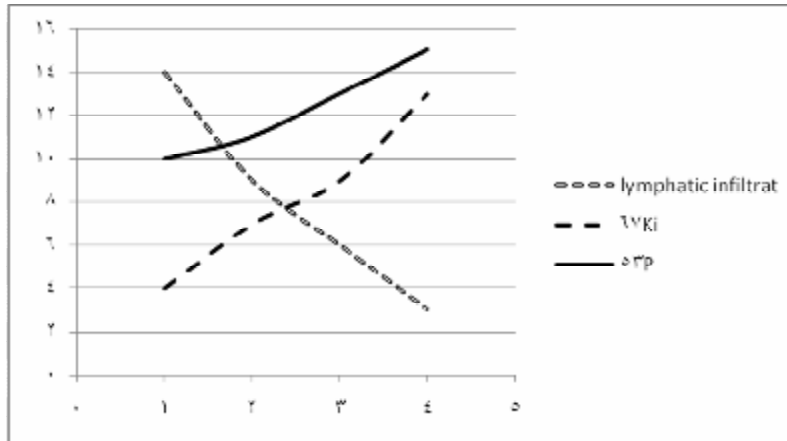
كما يتضح من المخطط البياني السابق علاقة الكواشف المناعية فيما بينها، فيلاحظ أن علاقة الكاشف الـ Ck مع الـ p53 و الـ Ki67 علاقة عكسية بلغت قيمة معامل الارتباط بحسب بيرسون -0,991، و -0,979 على الترتيب وهي علاقة قوية، كما أن العلاقة بين الـ p53 و الـ Ki67 هي أيضاً علاقة قوية ولكنها طردية، إذ بلغت قيمة معامل الارتباط بحسب بيرسون 0,986.

يبين المخطط رقم (3) العلاقة الطردية القوية بين الكاشف Ki67 و p53 من جهة ووضوح النويات وتعدد الأشكال الخلوية والانقسامات الخلوية الشاذة والتقرن الفردي من جهة أخرى، إذ بلغت قيمة معامل بيرسون 0,973، و 0,975، 0,976، على التوالي بالنسبة إلى الكاشف Ki67 و 0,92، و 0,95، و 0,99، و 0,98، على التوالي بالنسبة إلى الكاشف p53. في حين يوضح المخطط رقم

(4) طبيعة العلاقة بين الكواشف المناعية والرشاحة Ki67 من جهة والرشاحة اللمفية من جهة أخرى، إذ بلغت الخلوية اللمفية، فتتضح العلاقة العكسية القوية بين p53 و قيمة معامل الارتباط -0,961 و -0,979 على التوالي.



المخطط البياني رقم (3) علاقة الكاشف Ki67 و p53 بعلامات الخبث الخلوي :  
وضوح النويات وتعدد الأشكال الخلوية والانقسامات الشاذة والتقرن الفردي



المخطط البياني رقم (4) علاقة الكاشف Ki67 و p53 و Ck مع الرشاحة اللمفية

#### المناقشة:

لنتقييم درجة الخبث النسيجي في السرطان البشري شائك الخلايا. (37)

اعتمدنا في تصنيف الحالات المدروسة وفق درجة الخباثة النسيجية على تقسيم الحالات إلى أربع درجات، (38) وذلك اعتماداً على المعايير النسيجية المعتمدة لتقييم درجة الخبث الخلوي. (37) ولدى دراسة العلاقة بين هذه العلامات ودرجة الخبث الخلوي لاحظنا العلاقة القوية الطردية التي تصف وضوح النويات والانقسامات الشاذة وتعدد الأشكال

يُعتمد عادة في تشخيص الخبث نسيجياً بالنسبة إلى السرطان بشكل عام، وإلى السرطان البشري شائك الخلايا موضوع بحثنا بشكل خاص، على تبدلات الخلايا شكلياً (مورفولوجياً). تُعدّ الانقسامات الشاذة والتقرن المفرد وكرات التقرن ووضوح النويات وتعدد الأشكال والحجوم الخلوية وتبديل النسبة بين النواة والهيولى من أهم المعايير الخلوية التي وضعتها منظمة الصحة العالمية

وبروتينات القرنين الخلوي، بغض النظر عن البشرية أهي متقرنة أم لا؟ هي مجموعة كبيرة تضم مركبات متفاوتة الوزن الجزيئي، تؤدي دوراً منظماً مهماً ضمن الخلية البشرية إذ تحافظ على هيكلية الخلية وشكلها. لوحظ أن الخلايا البشرية تظهر القرنين الخلوي 17، فضلاً عن القرنين الخلوي 4 و 13، في خلايا الآفات السرطانية وبشكل أوضح مما تبديه الخلايا البشرية في الآفات قبيل السرطانية،<sup>(41)</sup> وهذا ما لاحظناه في عينتنا إذ بلغت نسبة إيجابية الكاشف Ck17 65,5%، واتضحت العلاقة العكسية بينه وبين درجة الخباثة.

قد تعكس إيجابية كاشف Ki67، برأينا، مدى خطورة الحالة إلى حد ما، فقد بلغت نسبة 56,25% في الدرجة III نسبة 81,25% في الدرجة الرابعة؛ مما يشير إلى أن تعبيرية الـ Ki67 لا علاقة لها بالتطور السريري ولكنها تملك علاقة مع الإنذار، إذ إن إيجابيتها تدل على زيادة الفعالية التكاثرية. أمّا من حيث دلالة نتائج إيجابية المورثة P53 والبروتينات الخاصة بها ومقدار التغير الحاصل فيها مع درجة الورم، فهناك بحوث تشير إلى العلاقة الوثيقة بين زيادة التعبير عن المورثة P53 الكابحة لنمو الأورام وزيادة Ki67 المعبر عن تكاثر الخلايا في الأورام عالية الخطورة<sup>(27، 28، 29، 35)</sup>.

#### الاستنتاج:

السرطان هو خلل مورثي ذو صفة تراكمية، وإن التغيرات المورثية، سواء في المورثات الكابحة لنمو الأورام أو لتنظيم دورتها، تتسبب بخلل وظيفي، يمكن أن يتجلى بظهور مركبات مختلفة في الخلية البشرية السرطانية، أو ثبات بعضها الآخر بحيث يمكن اكتشاف وجودها بالكواشف المناعية وبطرائق التلوين المناعي النسيجي. توجد علاقة قوية طردية بين درجة الخبث وعلامات اللانموذجية الخلوية (التغيرات الشكلية) من

والتقرن الفردي، كما لاحظنا أن وجود كرات التقرن ودرجة تجانس اصطبغ النوى تتناسب عكسياً مع درجة الخبث الخلوي. من ثمّ كن أن ترتب وضوح النويات وتعدد الأشكال والانقسامات الشاذة والتقرن الفردي بحسب أهميتها في التشخيص النسيجي، فيقدر ما تبدي الخلايا السرطانية نويات واضحة وتعدد أشكال وانقسامات شاذة وحالات تقرن فردي بقدر ما يمكن التوقع بدرجة الخباثة الخلوية، وهذه التغيرات الخلوية الشكلية لها مصداقية أظهرتها العلاقة الطردية القوية بينها وبين الكاشفين Ki67 و p53، اللذين يُعدان واسمتين حيويتين موثوقاً بهما بقدر ما تُعبّر زيادتهما عن تزايد تكاثر الخلايا السرطانية ونشاطها وشدوها.<sup>(21، 29، 35، 36)</sup>

أشار كثير من الباحثين إلى الرشاحة الخلوية للمفيدة والبلاسمية وفعالية الخلايا البالعة الكبيرة التي يمكن ملاحظتها في المقاطع النسيجية للآفات السرطانية،<sup>(39)</sup> وهذا ما لاحظناه بنسبة 50% في العينات المدروسة، كما يتضح في الجدول رقم (2) تناقص نسبة هذه الرشاحة بازدياد درجة الخبث الخلوي. نعتقد أن هذه الرشاحة ذات صفة مناعية، نظراً إلى التسرطن هو آلية مختلفة تماماً عن آلية الانتهاب. من جهة أخرى تشير العلاقة العكسية القوية بين p53 و Ki67 من جهة وبين هذه الرشاحة، برأينا، إلى أن الخلايا السرطانية تتمكن من التأثير في فعالية الخلايا المفيدة المناعية وتستطيع التهرب من رقابتها، مع أن بعض الدراسات أظهرت أن الحالات المتقدمة من السرطان لا تترافق مع خلل وظيفي للخلايا للمفيدة التائية المساعدة CD4، أو تغير في الأنترلوكين 4 و 6 و 8.<sup>(40)</sup>

نلاحظ أن إيجابية كاشف القرنين الخلوي يتراجع مع ازدياد خبث السرطان؛ مما يشير إلى أن الخلايا السرطانية قد تدنى مستوى أدائها الوظيفي، خاصة أن

وضوح النويات وتعدد الأشكال الخلوية وظهور عن العلاقة القوية العكسية بين إيجابية الكاشفين المناعيين الانقسامات الخلوية الشاذة والنقرن الفردي والإيجابية p53 و Ki67 وظهور الرشاحة اللمفية المصورية. المناعية النسيجية خاصة للكاشفين p53 و Ki67. فضلاً

#### References

1. Carlos de Vincent J, Junqueira Gutierrez LM, Zapatero AH, and al. Prognostic significance of p53 expression in oral squamous cell carcinoma without neck node metastases. *Head Neck* 2004;26:22-30.
2. Casiglia J, Woo SB. A comprehensive review of oral cancer. *Gen Dent* 2001 Jan-Feb.;49(1):72-82.
3. Cawson RA, Binnie WH, Speight PM. Lucas's Pathology of Tumors of the Oral Tissues. Fifth Edition 1998, Churchill Livingstone.
4. Weinberg MA, Estefan DJ. Assessing oral malignancies. *Am Fam Physician* 2002 Apr 1 ; 65(7) : 1379-84 Related Articles, Books, LinkOut.
5. Walker DM, Boey G, McDonald LA. The pathology of oral cancer. *Pathology* 2003;35:376-83.
6. Haas S, Hormann K and Bosch FX. Expression of the cell cycle proteins in head and neck cancer correlates with tumor site rather than tobacco use. *Oral Oncol.* 2002;38:618-623.
7. Thomas G, Hashibe M, Jacob BJ, and al. Risk factors for multiple oral premalignant lesions . *Int J cancer.* 2003 November 1;107(2):285-91.
8. Viswanthan M, Sangiliyandi G, Vinod SS, and al. Genomic instability and tumor-specific alterations in oral squamous cell carcinomas assessed by Inter- ( simple sequence repeat ) PCR. *Clin Cancer Res* 2003 Mar; 9 (3): 1057-62.
9. Huang Q, Yu GP, McCormick SA, Mo J, Datta B, and al. Genetic differences detected by comparative genomic hybridization in head and neck squamous cell carcinomas from different tumor sites: construction of oncogenetic trees for tumor progression. *Genes Chromosomes Cancer* 2002 Jun;34(2): 224-33.
10. Sudbo J, Warloe T, Aamdal S, and al. Diagnosis and treatment of oral precancerous lesions . *Tidsskr Nor Laegeforen.* 2001 October 30;121(26):3066-71.
11. Moll R. Cytokeratins as markers of differentiation in the diagnosis of epithelial tumors. *Subcell Biochem* 1998; 31:205-262.
12. Moll R, Franke WW, Schiller DL, et al. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell* 1982; 31: 11-24.
13. Fillies T, werkmeister R, Packeisen J, and al. Cytokeratin 8/18 expression indicates a poor prognosis in squamous cell carcinomas of the oral cavity. *BMC Cancer* 2006;6:10.
14. Squire CA, Kremer MJ. Biology of oral mucosa and esophagus. *J. of the National Cancer Institute Monographs* 2001;29.
15. Toyoshima T, Vairaktaris E, Nkenke E, and al. Cytokeratin 17 mRNA has potential for diagnostic marker of oral squamous cell carcinoma. *J. of Cancer Res and Clin Oncol* 2008; 134(4): 515-521.
16. Wei KJ, Zhang L, Yang X, and al. Overexpression of cytokeratin 17 protein in oral squamous cell carcinoma in vitro and in vivo. *Oral Diseases* 2008; 15(1): 111-117.
17. Toyoshima T, Koch F, Kaemmerer P, and al. expression of cytokeratin 17 mRNA in oral squamous cell carcinoma cells obtained by brush biopsy: preliminary results. *J. of Oral Path & Med* 2009;38(6): 530-534.
18. Sciubba JJ. Oral cancer. The importance of early diagnosis and treatment . *Am J Clin Dermatol.* 2001; 2(4): 239-51.
19. Mehrotra R, Vasstrand EN, Ibrahim SO. Recent advances in understanding carcinogenicity of oral squamous cell carcinoma: From basic molecular biology to latest genomic and proteomic findings. *Cancer Gen Proteom* 2004;1:283-94.
20. Spitz MR, Fueger JJ, Beddingfield NA, and al. Chromosome sensitivity to bleomycin induced mutagenesis an independent risk factor for upper aerodigestive tract cancer. *Cancer Res* 1989;49:4626-8.
21. Gonzalez-Moles MA, Ruiz-Avila I, Gil-Montoya JA, and al. analysis of Ki67 expression in oral squamous cell carcinoma: Why Ki67 is not a prognostic indicator. *Head & Neck Oncol & Path* 2010; 46(7):525-530.
22. Choi S and Myers JN. Molecular pathogenesis of oral squamous cell carcinoma: implications for therapy. *J Dent Res* 2008; 87(1):14-32.

23. Peltonen JK, Helppi HM, Pääkkö P, and al. P53 in head and neck cancer : Functional consequences and environmental implications of TP53 mutations. *Head & Neck Oncol* 2010;2:36.
24. Brennan J A, Boyle JO, Koch WM, and al. Association between cigarette smoking and mutation of the p53 gene in squamous cell carcinoma of the head and neck. *The new Eng J. of Med* 1995;332:712-717.
25. Kim ES, Kies M, Herbst RS. Novel therapeutics for head and neck cancer . *Curr Opin Oncol* 2002 May; 14(3):334-42.
26. Sá CT, Fonseca LMS, Cardoso SV, and al. P53 immunoeexpression in oral squamous cell carcinoma from different anatomical sites: A comparative study. *Int J Morphol.* 2006; 24(2):231-238.
27. Lamaroon A, khemaleelakul U, Pongsiriwet S, and al. Co-expression of p53 and Ki67 and lack of EBV expression in oral squamous cell carcinoma. *J. of Oral Path & Med* 2004; 33(1): 30-36.
28. Bansal S, Sircar K, Joshi SK, and al. A comparative study of p53 expression in hyperplastic, dysplastic epithelium and oral squamous cell carcinoma. *Braz J Oral Sci* 2010;9(2): 85-88.
29. Saito T, Nakajima T, Mogi K. Immunohistochemical analysis of cell cycle-associated proteins p16, pRb, p53, p27 and Ki67 in oral cancer and precancer with special reference to verrucous carcinomas. *J. of Oral Pathol & Med* 1999; 28(5):226-232.
30. Farshadpour F, Hordijk GJ, Koole R, and al. Head and neck squamous cell carcinoma in non-smoking and non-drinking patients with multiple tumors: etiologic significance of p53 and Ki67 in non-tumorous epithelium. *J. of Oral Pathol & Med* 2008; 37(9):549-554.
31. Maharudrappa B and Kumar GS. P53 gene expression in oral smears of tobacco chewers. *Inter. J. of Dental Clinics* 2010;2(1):3-17.
32. Livingston G, Reed R, Olson B, and al. Induction of nuclear aberrations by smokeless tobacco in epithelial cells of human oral mucosa. *Environmental and molecular mutagenesis* 2008;15(3):136-144.
33. Torres-Rendon A, Roy S, Craig GT and al. Expression of Mcm2, geminin and Ki67 in normal oral mucosa, oral epithelial dysplasias and their corresponding squamous cell carcinomas. *British J. of Cancer* 2009; 100:1128-1134.
34. Gonzalez-Moles MA, Bravo M, Ruiz-Avila I, and al. Ki67 expression in non-tumour epithelium adjacent to oral cancer as risk marker for multiple oral tumours. *Oral Diseases* 2010; 16:68-75.
35. Coutinho-Camillo CM, Lourenco SV, Nishimoto IN, and al. Nucleophosmin, p53, and Ki67 expression patterns on an oral squamous cell carcinoma tissue microarray. *Hum Pathol* 2010;41(8):1079-1086.
36. Sun Da-wei, Wang Yan-jun, Kong Wei-jia, and al. A correlative study of Ki67 and vascular endothelial growth factor and their value in laryngeal squamous cell carcinoma. *Chinese J. of Cancer Res* 2005;17(4): 235-240.
37. Barnes L, Eveson JW, Reichart P, and al. editors WHO classification of tumours. Pathology and genetics of head and neck tumours: Epithelial precursor lesions, Oral cavity and oropharynx. Lyon: International Agency for Research on Cancer Press; 2005. P. 143, 164-208.
38. Sobin L, Gospodarowicz M, Wittekind C. TNM classification of malignant tumours. Seventh edition International Union Against Cancer 2009.
39. Feinmesser M, Okon E, Schwartz A, and al. Histologic and immunohistochemical characterization of tumor and inflammatory infiltrates in oral squamous cell carcinomas treated with local multikine immunotherapy: the macrophage at the front line. *Head and Neck Oncol* 2004; 261:359-368.
40. Oliveira MVM, Fraga CAC, Gomez RS, and al. Immunohistochemical expression of interleukin-4, -6, -8, and -12 in inflammatory cells in surrounding Invasive front of oral squamous cell carcinoma. *Head and Neck* 2009.
41. Ohkura S, Kondoh N, Hada A, and al. differential expression of the keratin-4, -13, -14, -17 and transglutaminase 3 genes during the development of oral squamous cell carcinoma from leukoplakia. *Oral Oncology* 2005;41:607-613.

تاريخ ورود البحث إلى مجلة جامعة دمشق 2011/7/6.

تاريخ قبوله للنشر 2011/7/31.